

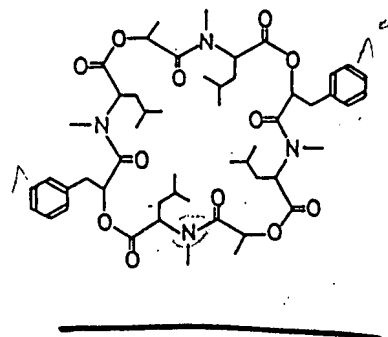
(54) **CYCLIC DEPSIPEPTIDE SUBSTANCE, ITS PRODUCTION AND ANTHELMINTICS CONTAINING THE SAME**

- (11) 3-35796 (A) (43) 15.2.1991 (19) JP
 (21) A ppl. No. 65-25176 (22) 6.2.1990 (33) JP (31) 89p.26739 (32) 7.2.1989
 (71) MEIJI SEIKA KAISHA LTD (72) MASAYUKI TAKAGI(9)
 (51) Int. Cl.³. C12P21/04, A61K31/395, C07D273/00, C07G11/00//C12P21/04, C12R1/645

NEW MATERIAL: The compound of the formula, having the following properties:
 description: colorless crystals; melting point: 104 to 106°C; molecular formula: $C_{55}H_{76}N_4O_{12}$; elementary analyses in %: C 65.46, H 8.25, N 6.10; specific rotation: $[\alpha]_D^{25} = -102^\circ$ (C=0.1, methanol); solubility: soluble in methanol, ethyl acetate, acetone, chloroform, and dimethyl sulfoxide, insoluble in water; neutral substance.

USE: Therapeutic and preventive agent for palasitic infections.

PREPARATION: A mold producing RF 1022 substance (FERM P-10504) is cultured, preferably according to the submerged culture method at 26°C for 2 to 10 days.



(54) **PRODUCTION OF ANTI-HLA MONOCLONAL ANTIBODY**

- (11) 3-35798 (A) (43) 15.2.1991 (19) JP
 (21) Appl. No. 65-26828 (22) 6.2.1990 (33) JP (31) 89p.29313 (32) 8.2.1989
 (71) OLYMPUS OPTICAL CO LTD (72) MASAFUMI TAKIGUCHI(1)
 (51) Int. Cl.³. C12P21/08, C12N5/18, C12N15/06, G01N33/577//A61K39/395(C12P21/08, C12R1/91)

PURPOSE: To enable efficient production of the title antibody for a group determining antigens having delicate difference which can be recognized between human and human by using, as an immune animal, not human mammalian animal which is transformed with a recombinant gene into which HLA gene is introduced.

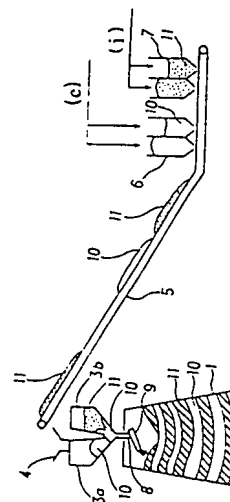
CONSTITUTION: The HLA gene is introduced into a fertilized ovum of not human mammalian animal and the ovum is transferred into the uterus of the female animal as a tentative mother. Then, the tentative mother is fed for a certain period to give birth to the animal of which the gene is transformed. Then, HLA antigen is given to the mammals expressing the HLA gene introduced as an immunogen. Then, the spleen is excised from the immunized animals, the spleen cells are fused with myeloma cells and the hybridoma producing the antibody is selected from the fused cells. Finally, the hybridoma is cultured to produce the subject antibody.

(54) **METHOD FOR CHARGING RAW MATERIAL IN BELLLESS BLAST FURNACE**

- (11) 3-36206 (A) (43) 15.2.1991 (19) JP
 (21) Appl. No. 64-166522 (22) 30.6.1989
 (71) KAWASAKI STEEL CORP (72) TAKASHI KOBAYASHI(1)
 (51) Int. Cl.³. C21B5/00

PURPOSE: To uniformly form the whole mixed layer of coke and an ore in a furnace by forming the coke layer at lower part and the ore layer at upper part in a furnace top hopper at a specific ratio and charging into the furnace while mixing them through a swinging chute.

CONSTITUTION: Coke 10 and the ore 11 are discharged on a charging conveyor 5 from coke hopper 6 and an ore hopper 7 is set on the charging conveyor 5. Then, by controlling timing for discharging them, at first, the coke 10 is made to store in the furnace top hoppers 3a, 3b and successively, the ore 11 is made to store. By this method, the coke layer at the lower part and the ore layer at the upper part are formed. After that, these raw materials are charged to the blast furnace 1 from the furnace top hoppers 3a, 3b through a vertical chute 8 and a swinging chute 9. By this method, coarse grain of the coke 10 flows down while involving fine grain of the ore 11 from center and these are uniformly mixed in the process of the above charging. By this method, the whole mixed layer of both materials is formed and gaseous transmission can be improved.



⑫ 公開特許公報(A) 平3-35796

⑤ Int. Cl.³

C 12 P 21/04
A 61 K 31/395
C 07 D 273/00

識別記号

AEC

庁内整理番号

8214-4B
7475-4C
7624-4C※

④ 公開 平成3年(1991)2月15日

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全12頁)

⑭ 発明の名称 環状デブシペプチド物質およびその製造法、ならびにそれを含有する駆虫剤

⑮ 特 願 平2-25176

⑯ 出 願 平2(1990)2月6日

優先権主張 ⑰ 平1(1989)2月7日 ⑱ 日本(JP) ⑲ 特願 平1-26739

⑳ 発 明 者 高 木 誠 之 神奈川県横浜市港北区師岡町760 明治製菓株式会社薬品総合研究所内

㉑ 発 明 者 岡 田 忠 昭 神奈川県横浜市港北区師岡町760 明治製菓株式会社薬品総合研究所内

㉒ 出 願 人 明治製菓株式会社 東京都中央区京橋2丁目4番16号

㉓ 代 理 人 弁理士 湯 本 宏

最終頁に続く

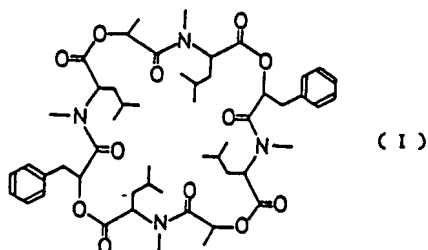
明 細 書

1. 発明の名称

環状デブシペプチド物質およびその製造法、ならびにそれを含有する駆虫剤

2. 特許請求の範囲

1. 下記の式(I)で示される環状デブシペプチド物質



2. 下記の特性を有するPF1022物質

(1) 色および形状: 無色結晶

(2) 融点: 104~106℃

(3) 分子式: C₅₂H₇₆N₄O₁₂

(4) 元素分析:

計算値 C 65.80, H 8.07, N 5.90 (%)

実験値 C 65.46, H 8.25, N 6.10 (%)

(5) マススペクトル(EI-MS): m/z 948(M⁺)

(6) 比旋光度: [α]_D²² -102° (c 0.1, メタノール)

(7) 紫外吸収スペクトル: 第1図に示す。

(8) 赤外吸収スペクトル: 第2図に示す。

(9) ¹H NMRスペクトル: 第3図に示す。

(10) ¹³C NMRスペクトル: 第4図に示す。

(11) 溶解性: メタノール, 酢酸エチル, アセトン, クロロホルム, ジメチルスルホキシドに溶け, 水に溶けない。

(12) 塩基性, 酸性, 中性の区別: 中性物質

3. カビに属するPF1022物質生産菌を培養し, その培養物からPF1022物質を採取することを特徴とするPF1022物質の製造法。

4. 有効成分としてPF1022物質を含有する駆虫剤。

3. 発明の詳細な説明

産業上の利用分野

本発明は, 駆虫活性を有する新規化合物, およ

びその製造法、ならびに駆虫剤に関する。

従来の技術

従来、微生物の生産する生理活性物質は数多く知られているが、本発明による環状デブシペプチド物質であるPF1022物質と理化学的性状が一致する化合物は知られていない。また駆虫活性を有する化合物は多数知られているが、微生物の生産物で駆虫活性を有する物質としては、デストマイシンA、ハイグロマイシンB、アベルメクチン等が挙げられるがその数はきわめて少ない。

発明が解決しようとする課題

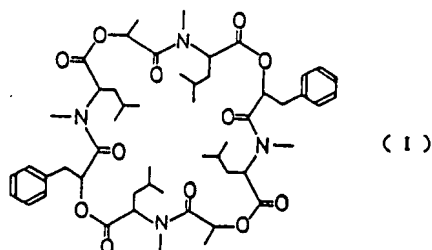
一般に、寄生虫病と呼ばれる病気は動物宿主に寄生虫が寄生することによって起こり、人間および動物の健康ならびに農業に甚大な被害を及ぼす。従って新規な駆虫活性物質の出現は常に求められている。本発明者らは、駆虫作用を有する新規な化合物を提供するとともに、その有利な製造法を確立し、該有効物質を含有する駆虫剤を提供することによって、これを解決しようとするものである。

(10) ^{13}C NMRスペクトル：第4図に示す。

(11) 溶解性：メタノール、酢酸エチル、アセトン、クロロホルム、ジメチルスルホキシドに溶け、水に溶けない。

(12) 塩基性、酸性、中性の区別：中性物質

また、本発明に係る環状デブシペプチド物質の化学構造式は、下式(1)で示される事が分かった。



式(1)で示される環状デブシペプチド物質は公知の化学的な合成方法によって製造することは可能であるが、以下にその製造法の一態様として、カビに属するPF1022物質生産菌を培養し、その培養物からPF1022物質を採取する方法

課題を解決するための手段

本発明者らは、上述の期待に応えるべく、駆虫活性を有する物質の探索を続けていたところ、カビに属する菌株の培養物中に駆虫活性を有する物質が生産されていることを見出し、有効物質を単離し、その理化学性状を確定することにより、本発明を完成した。

PF1022物質は下記の特性を有する。

(1) 色および形状：無色結晶

(2) 融点：104~106℃

(3) 分子式： $\text{C}_{52}\text{H}_{76}\text{N}_4\text{O}_{12}$

(4) 元素分析：

計算値 C 65.80, H 8.07, N 5.90 (%)

実験値 C 65.46, H 8.25, N 6.10 (%)

(5) マススペクトル (EI-MS)： m/z 948 (M^+)

(6) 比旋光度： $[\alpha]_D^{22} - 102^\circ$ (c 0.1, メタノール)

(7) 紫外吸収スペクトル：第1図に示す。

(8) 赤外吸収スペクトル：第2図に示す。

(9) ^1H NMRスペクトル：第3図に示す。

を記載する。

本発明に使用する微生物PF1022株は1988年に、茨城県下で採取した植物より新たに分離したカビの一種で、その菌学的性状は次の通りである。

PF1022株の菌学的性状

ポテト・デキストロース寒天 (PDA)、ポテト・キャロット寒天 (PCA)、麦芽エキスを寒天 (MEA)、およびオートミール寒天 (OA) の4種類の培地上、25℃でよく生育し、7日間でペトリ皿全面 (>85 mm) が白色綿毛状菌糸でおおわれる。集落の裏面は最初白色ないし淡黄色で、3週間程度培養すると径2~3 mmの黒褐色斑点を生ずるが、分生子などの特徴的形態は観察出来なかった。顕著な可溶性色素は生成しない。pH5~7での成育は良好である。

ツアベック・ドックス寒天 (CzA)、三浦寒天 (LcA)、およびコーンミール寒天 (CMA) の各培地上、25℃での成育は悪く、7日間で径10~20 mm程度の白色綿毛様の集落となる。分生子などの形

成は認められなかった。37℃では生ぜず、15℃ではPCA, PDA, MEA, OAで35~50mm程度に生育し、その培養性状は25℃の場合とほぼ同様であった。

素寒天上に滅菌した種ワラ、バナナの葉、カーネーションの葉などを置いて植菌し、25℃で1ヶ月間観察したが、この場合も分生子の形成など特徴的な形態は認められなかった。

従って、本菌株を無孢子不完全菌PF1022株と呼称することにした。

なお、本菌株は工業技術院微生物工業技術研究所に菌工研菌寄第10504号(FERM P-10504)として寄託されていたが、現在は菌工研条寄第2671号(FERM BP-2671)として寄託されている。

PF1022株は他のカビに見られるように、その性状が変化しやすい。例えば、この株に由来する突然変異株(自然発生または誘発性)、形質接合体または遺伝子組替え体であっても、PF1022物質を生産するものは全て本発明に使用できる。本発明の方法では、前記の菌を通常の菌生

する。PF1022物質の生産は培地や培養条件により異なるが、振盪培養、タンク培養のいずれにおいても通常2~10日の間でその蓄積が最高に達する。培養中のPF1022物質の蓄積量が最高になった時に培養を停止し、培養液から目的物質を単離精製する。

PF1022物質の精製法

本発明によってえられるPF1022物質の培養物からの採取に当たっては、その性状を利用した通常の分離手段、例えば、溶剤抽出法、イオン交換樹脂法、吸着または分配カラムクロマト法、ゲルろ過法、透析法、沈澱法等を単独でまたは適宜組合わせて用いることができる。例えば、PF1022物質は、培養菌体中からはアセトン-水またはメタノール-水で抽出される。また、培養液中に蓄積されたPF1022物質は合成吸着剤であるダイヤイオンHP-20(三菱化成社製)等に吸着される。また、水と混ざらない有機溶剤、例えば、ブタノール、酢酸エチル等で抽出すればPF1022物質は有機溶剤層に抽出される。

物が利用しうる栄養物を含有する培地で培養する。栄養源としては、従来カビの培養に利用されている公知のものが使用できる。

PF1022株の培養法

例えば、炭素源として、グルコース、シュクロース、水あめ、デキストリン、澱粉、グリセロール、糖みつ、動・植物油等を使用しうる。また窒素源として、大豆粕、小麦胚芽、コーンステイブリカー、綿実粕、肉エキス、ペプトン、酵母エキス、硫酸アンモニウム、硝酸ソーダ、尿素等を使用しうる。その他、必要に応じ、ナトリウム、カリウム、カルシウム、マグネシウム、コバルト、塩素、燐酸、硫酸、およびその他のイオンを生成することができる無機塩類を添加することは有効である。また菌の発育を助け、PF1022物質の生産を促進するような有機および無機物を適当に添加することができる。

培養法としては、好氣的条件での培養法、特に深部培養法が最も適している。培養に適当な温度は15~30℃であるが、多くの場合26℃付近で培養

PF1022物質をさらに精製するには、シリカゲル(ワコーゲル C-200、和光純薬工業社製等)、アルミナ等の吸着剤やセファデックスLH-20(ファルマシア社製)等のゲル濾過剤を用いるクロマトグラフィーを行うとよい。また逆相高速液体クロマトグラフィーも有効な手法である。

本発明の第3の要旨は、PF1022物質を有効成分として含有する駆虫剤を提供することにある。

PF1022物質を駆虫剤として適用しようとする動物は豚、牛、馬、兎、羊、山羊、鶏、アヒル、七面鳥、二十日ネズミ、大黒ネズミ、モルモット、サル、犬、猫、小鳥等の家畜、家禽、実験動物、ペット等を挙げることができる。また、これらの動物の寄生虫としては、例えば、牛、羊の捻転胃虫、オステルターグ胃虫、毛円虫、クーバー線虫、腸結節虫、双口吸虫、ペネディン条虫、肺虫、肝蛭等、豚の回虫、鞭虫、腸結節虫等、犬の回虫、鉤虫、鞭虫、糸状虫等、猫の回虫、マンソン裂頭条虫等、鶏の回虫、毛様虫、盲腸虫等が

ある。また、ヒトの回虫、蟯虫、鉤虫（ズビニ鉤虫、セイロン鉤虫、アメリカ鉤虫）、東洋毛線蟯虫、寛線虫、鞭虫などが知られている。

PF1022物質は寄生虫感染症の治療および予防のために用いることができる。治療のための投与方法は、経口的または非経口的な方法がある。経口的に投与する場合は、液状の製剤を胃カテーテル等の器具を用いて強制的に投与する方法、通常の飼料または飲料水に混合して投与する方法、あるいは、通常の経口投与に適した剤型、例えば錠剤、カプセル剤、ペレット剤、巨丸剤、粉剤あるいは軟カプセル剤等で投与する方法がある。非経口的に投与する場合は、ピーナツ油、大豆油等の非水溶性処方、グリセロール、ポリエチレングリコール等の水溶性処方を注射などにより皮下、筋肉内、静脈内、腹腔内等に投与する。また、寄生虫の予防のための投与方法は、通常用いられている飼料に混合して経口的に投与するのが一般的である。投与期間は予防の場合制限が無いが、通常肉用鶏では約2ヶ月、豚では5ヶ月で十分であ

本PF1022物質をマウスに300mg/kgを経口投与しても平常の体重増加を示し、その他の異常も認められず、本物質がきわめて低毒性であることを示している。又、本PF1022物質のエイムス試験、及び哺乳動物細胞染色体異常試験は、共に陰性で変異原性にも問題がないことが証明されている。

実施例

以下に本発明の実施例を示すが、これらは単なる一例であって本発明を限定するものではない。ここに例示しなかった多くの変法あるいは修飾手段を用いることは勿論のことである。

実施例1

種培地として、澱粉1.0%、グルコース1.0%、綿実粕0.5%、小麦胚芽0.5%、大豆粕0.5%、酵母エキス0.5%、硫酸マグネシウム（7水塩）0.1%、炭酸カルシウム0.2%、および塩化ナトリウム0.2%の組成からなる培地を用いた。

また、生産培地として、水あめ3.0%、大豆油1.0%、小麦胚芽0.8%、大豆粕1.0%、乾燥酵母

ることが多い。

PF1022物質の投与量は対象動物及び寄生虫の種類、あるいは投与方法により異なる。例えば、鶏の回虫を駆除するために液状製剤を胃カテーテルを用いて経口的に投与する場合は0.05mg/kg以上、好ましくは0.2ないし3mg/kgを投与する。また、予防のための投与量は飼料中1ppm以上、好ましくは5~10ppmの濃度で連続的に投与する。

また、PF1022物質を液体担体に溶解または懸濁した場合には、動物の皮下、または筋肉内等に注射により、非経口的に投与することができる。非経口投与する場合は、ピーナツ油、大豆油のような植物油類を用いた非水性処方を使用され、またグリセロール、ポリエチレングリコールのような水溶性賦形剤を用いた水性非経口処方も使用される。これらの処方は、一般に、PF1022物質を0.1~10重量%含有する。非経口投与における用量は、1日当たり、0.01mg/kg以上、好ましくは、0.1~10mg/kgの範囲で使用される。

1.0%、炭酸カルシウム0.3%、硫酸マグネシウム（7水塩）0.2%および塩化ナトリウム0.2%の組成からなる培地を用いた。

なお、殺菌前pHはすべてpH7.0に調節して使用した。

前記の種培地20mlを分注した100ml容三角フラスコを120℃で15分間殺菌し、これに不完全菌PF1022株（FERM P-10504）の斜面寒天培養の2~3白金耳を接種し、26℃で7日間振盪培養し、第1種培養とした。次いで、種培地80mlを分注した500ml容三角フラスコを120℃で15分間殺菌し、前記第1種培養4mlを接種し、26℃で2日間振盪培養し、これを第2種培養とした。予め120℃で30分間殺菌した35Lの生産培地を含む50L容ジャー・フェメンター2基に、前記の第2種培養をフラスコ5本分接種し、26℃で5日間通気（20L/分）、攪拌（初期250rpm、65時間以降400rpm）培養した。培養終了後、濾過助剤として珪藻土を加えて濾過した。

得られた菌体を含む固型物に、60℃のアセトン水(62L)を加え、1時間攪拌後菌体を濾別して抽出液を得た。菌体抽出液は、減圧下でアセトンを留去して11.7Lの濃縮液を得た。この濃縮液から酢酸エチル(23L)でPF1022物質を抽出し、酢酸エチル層を濃縮すると油状物質(19.8g)が得られた。この油状物質をシリカゲルカラム(ワコーゲル C-200, 250g)の上部にのせ、クロロホルム(2L)およびクロロホルム-メタノールの混合溶媒(100:1, 1.5L)で展開するクロマトグラフィーを行った。PF1022物質を含む画分を濃縮乾固すると褐色の油状物質(4.25g)が得られた。得られた粗PF1022物質を更に、メタノールを展開溶媒とするセファデックスLH-20(1L)のカラムクロマトグラフィーを行って精製すると淡黄色の粉末(594mg)が得られた。この淡黄色粉末100mgをアセトニトリル-水の混合溶媒(85:15)を展開溶媒とする高速液体クロマトグラフィー(YMC, D-ODS-5, 流速 5ml/分)により精製し、PF1022物質を含む画分(保

持時間42分)の溶媒を留去すると無色粉末(65.5mg)が得られた。この粉末を、0.5mlのアセトンに溶解後5mlのヘキサンを加え室温に一晩静置したところ、PF1022物質の無色柱状結晶(24.9mg)が得られた。

実施例2

疫検査により、鶏回虫の感染が確認された鶏回虫人工感染鶏を1群3羽に群別して使用した。PF1022物質の投与量は0.2mg/kgから3mg/kgまでの5段階とし、無投与対照群を含めて、6群、計18羽を試験に供した。

PF1022物質の投与に際しては、各鶏毎の体重から正確に計算した投与量を、カルボキシメチルセルローズを混合した水に懸濁させて、胃ゾンデを用いて一回経口投与した。投与後、毎日各鶏毎に排出虫体数を数え、7日後に、各鶏を解剖して腸管内残留虫体数を数え、排虫率を算出した。

$$\text{排虫率} = \frac{7 \text{日間排出虫体数}}{7 \text{日間排出虫体数} + \text{残留虫体数}} \times 100$$

また、各鶏について投与直前の体重と7日後の体重とを測定し増体率を算出した。

$$\text{増体率} = \frac{\text{投与7日後体重} - \text{投与時体重}}{\text{投与時体重}} \times 100$$

上記試験結果は第1表に示す通りであり、PF1022物質は、0.2mg/kgの投与量で駆虫活性を示し、投与量を増すに従い駆虫効果は上昇し、3mg/kgで排虫率ほぼ100%を示すという強い駆虫活性物質である。さらに本物質は、排虫率100%を示す投与量においても、増体率は、無投与対照のものと同程度であり、きわめて安全性の高い物質である。

第1表 PF1022物質投与による鶏回虫駆虫試験

鶏番号	投与量	排虫率	平均排虫率	増体率	平均増体率
1	無投与	0(%)	(%)	9.5(%)	(%)
2		0	0	8.8	9.6
3		0		10.4	
4	0.2mg/kg	12.9	18.5	6.3	9.6
5		16.0		8.4	
6		26.7		14.0	
7	0.5mg/kg	16.4	45.4	8.2	9.2
8		52.1		11.5	
9		67.7		7.8	
10	1mg/kg	60.0	74.1	8.2	8.7
11		76.1		6.6	
12		86.2		11.2	
13	2mg/kg	82.1	84.6	7.8	8.9
14		93.5		10.5	
15		78.3		8.4	
16	3mg/kg	100	98.0	11.8	9.9
17		95.5		9.7	
18		98.3		8.3	

実施例 3

糞便検査により、豚回虫 (*Ascaris suum*) の感染が確認された豚に PF1022 物質を経口投与して駆虫効果を観察した実施例を示す。

PF1022 物質は 5 mg/kg, 10 mg/kg の 1 回、及び、1.25 mg/kg, 2.5 mg/kg, 5 mg/kg の 1 日 1 回 2 日間連続投与とし、所要量の原末を少量の通常の飼料に添加して与えられた。投薬後、毎日排出虫体を数え、糞便中の回虫卵 EPG (糞便 1 g 中の虫卵数) を調べた。そして、投薬開始から 1 週間後に解剖して腸管内の残存虫体数を数えた。

結果は第 2 表に示す通りであった。1.25 mg/kg の 2 日間投与で駆虫活性を示し、2.5 mg/kg の 2 日間投与、5 mg/kg, 10 mg/kg の 1 回投与では 50% 前後からそれ以上の排虫率を示した。そして、5 mg/kg の 2 日間投与では 100% の排虫率を示した。

このように PF1022 物質は豚回虫に対して強い駆虫効果が認められた。

第 2 表 PF1022 物質の豚回虫に対する駆虫効果

投薬回数	投薬量 (mg/kg/回)	EPG		排虫数	残虫数	排虫率 (%)
		投薬前	解剖時			
1 回	10	2100	200	7	5	58.3
	5	99000	8000	12	13	48.0
2 回	5	2700	0	13	0	100
	2.5	3300	0	3	1	75.0
	2.5	3800	0	1	1	50.0
	1.25	2300	500	2	9	18.2
	1.25	1800	100	2	4	33.3

実施例 4

糞便検査により、豚鞭虫 (*Trichuris suis*) の感染が確認された豚に PF1022 物質を経口投与して駆虫効果を観察した実施例を示す。

PF1022 物質は 1 mg/kg, 5 mg/kg, 10 mg/kg の 1 回、及び、2.5 mg/kg, 5 mg/kg の 1 日 1 回 2 日間連続投与とし、所要量の原末を少量の通常の飼料に添加して与えられた。投薬後、毎日全例の糞便中の鞭虫卵の EPG を調べ、また、そのうち 3 例においては排虫を数えた。そして、投薬開始から 1 週間後に全例解剖して腸管内の残存虫体

数を数えた。

結果は第 3 表に示す通りであった。1 mg/kg 1 回投与でわずかに駆虫活性を示し、5 mg/kg 1 回投与では排虫率 80% 前後から 100%、10 mg/kg 1 回投与と 5 mg/kg 2 日間投与では残存虫体が 0 で排虫率 100%、2.5 mg/kg 2 日間投与では 1 例が残存虫体 1、他の 1 例は残存虫体 0 であった。

このように PF1022 物質は豚鞭虫に対して強い駆虫効果が認められた。

第 3 表 PF1022 物質の豚鞭虫に対する駆虫効果

投薬回数	投薬量 (mg/kg/回)	EPG		排虫数	残虫数	排虫率 (%)
		投薬前	解剖時			
1 回	10	1800	0	-*	0	100
	5	1500	0	-	0	100
	5	21600	100	348	14	96.1
	5	3200	0	90	24	78.8
	1	5500	1200	14	334	4.0
2 回	5	100	0	-	0	100
	2.5	2100	0	-	1	100
	2.5	3000	0	-	1	-

*: - はデータ無し

実施例 5

糞便検査により、猫回虫 (*Toxocara cati*) の感染が確認された猫 12 頭に PF1022 物質を 1 回経口投与して駆虫効果を観察した実施例を示す。

感染猫 12 頭を 1 群 4 頭の 3 群に分け、それぞれ 0.2 mg/kg 投与群、1 mg/kg 投与群、5 mg/kg 投与群とした。PF1022 物質は所要量の原末を少量の通常の飼料に添加して与えられた。観察項目は投薬後 7 日間の排虫数と 7 日後の解剖時点の残存虫体数とした。

結果は第 4 表に示す通りであった。0.2 mg/kg でも 4 例中 3 例が排虫率 100% であり、5 mg/kg では全例が排虫率 100% であった。

このように PF1022 物質は猫回虫に対して強い駆虫効果が認められた。

第 4 表 P F 1 0 2 2 物質の猫回虫に対する駆虫効果

投薬量 (mg/kg)	排虫数	残虫数	排虫率 (%)
5	2	0	100
5	2	0	100
5	2	0	100
5	15	0	100
1	4	0	100
1	3	0	100
1	28	0	100
1	4	1	80.0
0.2	2	0	100
0.2	7	0	100
0.2	4	0	100
0.2	1	1	50.0

実施例 6

糞便検査により、猫鉤虫 (*Ancylostoma tubaeforme*) の感染が確認された猫 12 頭に P F 1 0 2 2 物質を 1 回経口投与して駆虫効果を観察した実施例を示す。

感染猫 12 頭を 1 群 4 頭の 3 群に分け、それぞれ 0.2mg/kg 投与群、1mg/kg 投与群、5mg/kg 投与群とした。P F 1 0 2 2 物質は所要量の原末を少

実施例 7

第 4 胃に寄生するオステルターグ胃虫 (*Ostertagia circumcincta*) 及び、小腸に寄生する毛様線虫 (*Trichostrongylus colubriformis*) を人工的に混合感染させた羊 24 頭に P F 1 0 2 2 物質を経口投与して駆虫効果を観察した実施例を示す。

感染羊 24 頭を 1 群 6 頭の 4 群に分け、それぞれ 1mg/kg 投与群、5mg/kg 投与群、10mg/kg 投与群、及び、感染対照群とした。P F 1 0 2 2 物質は 0.5% CMC に懸濁して胃カテーテルを用いて投与された。観察項目は投与前の糞便 1g 中の寄生虫虫卵数 (EPG) と投薬日後の EPG、そして、投薬 7 日後に解剖した際の第 4 胃内及び腸管内の残存虫体数とした。

結果は第 6 表に示す通りであった。各々の数値は 6 頭の平均値で示した。10mg/kg 投与群では第 4 胃内および腸管内残存虫体数は感染対照群に比べて半分程度であった。

このように P F 1 0 2 2 物質は毛様線虫に対して駆虫効果が認められた。

量の通常の飼料に添加して与えられ、観察項目は投薬後 7 日間の排虫数と 7 日後の解剖時点の残存虫体数とした。

結果は第 5 表に示す通りであった。0.2mg/kg では 1 例で排虫率 100% であった。投与量を増すとそれにつれて排虫率も増大し、5mg/kg では全例が排虫率 100% であった。

このように P F 1 0 2 2 物質は猫鉤虫に対して強い駆虫効果が認められた。

第 5 表 P F 1 0 2 2 物質の猫鉤虫に対する駆虫効果

投薬量 (mg/kg)	排虫数	残虫数	排虫率 (%)
5	7	0	100
5	6	0	100
5	3	0	100
5	68	0	100
1	5	3	62.5
1	10	0	100
1	56	8	87.5
1	55	1	98.2
0.2	82	55	59.9
0.2	3	3	50.0
0.2	110	240	31.4
0.2	6	0	100

第 6 表 P F 1 0 2 2 物質の羊消化管内線虫に対する駆虫効果

投薬量 (mg/kg)	E P G		残虫数	
	投与前	解剖時	第 4 胃内	腸管内
10	2332	1970	2467	5333
5	2458	2462	4717	8317
1	2447	3114	4967	8750
0	2148	3103	5433	10450

実施例 8

糞便検査により、いわゆる消化管内線虫 (捻転胃虫、オステルターグ胃虫、毛様線虫、クーベリア等) の感染が確認された牛 3 頭に P F 1 0 2 2 物質を経口投与して駆虫効果を観察した実施例を示す。

P F 1 0 2 2 物質は 5mg/kg 1 回と 12.5mg/kg 1 日 1 回 2 日間投与とし、水に懸濁して胃カテーテルを用いて投与された。投薬前 3 日間と投薬後 7 日間毎日糞便中の寄生虫虫卵数 (EPG) を数えた。

結果は第 7 表に示す通りであった。5mg/kg 投与ではばらつきはあるが徐々に EPG が減少する

傾向を示した。12.5mg/kg 2日間投与では2
の投与の翌日に投与前の1/2程度のEPGと
なった。

このようにPF1022物質は消化管内線虫に
対して駆虫効果が認められた。

第7表 PF1022物質の牛消化管内線虫に対する駆虫効果

投与量 (mg/kg)	糞便内虫卵数 (EPG) の推移										
	-3	-2	-1	0*	1	2	3	4	5	6	7日
5.0×18	30	32	34	34	44	61	18	30	6	22	7
12.5×28	91	109	109	112	80	26	34	41	41	42	49
12.5×28	58	58	67	64	39	30	41	29	34	40	38

*: 投薬開始日を0日とした

実施例9

糞便検査により、馬回虫 (*Parascaris equorum*)
と円虫類 (*Strongylus* spp.) の感染が確認され
た馬1頭にPF1022物質を経口投与して駆虫
効果を観察した実施例を示す。

PF1022物質は水に懸濁して胃カテーテル

第8表 PF1022物質の馬回虫および円虫類に対する駆虫効果

試験日数(日)	0	1	2	3	4	5	6	7
投与量(mg/kg)	5	2.5	-	-	-	-	-	-
馬回虫EPG	77	52	0.4	0.2	0	0	0.2	0
排虫数	0	22	17	0	0	0	0	0
円虫類EPG	265	82	0.6	0.4	0	0	0.2	0
排虫数*	0	82	0	0	0	0	0	0

*: 円虫類排虫数は糞便100g中の数

-: 投薬せず

実施例10

糞便検査により、鶏回虫 (*Ascaridia galli*) の
感染が確認された鶏9羽にPF1022物質を飼
料添加で投与して駆虫効果を観察した実施例を示
す。

鶏を1群3羽の3群に分け、それぞれ1ppm添
加群、5ppm添加群、10ppm添加群とした。PF1
022物質を添加した飼料は3週間にわたって鶏
に与えられた。糞便中の虫卵は1週間に1回観察
し、排虫は毎日数えた。投与終了後、鶏を解剖し
て残存虫体数を数えた。

を用いて1日目に5mg/kg、2日目に5mg/kg投
与された。回虫、円虫とも投薬開始から1週間毎
日糞便1g中の寄生虫虫卵数 (EPG) を数え、
排虫数も数えた。なお、円虫は糞便100g中の排
虫数を数えた。

結果は第8表に示す通りであった。EPGは投
薬2日目から減少し、その翌日には激減した。
回虫においては投薬2日目とその翌日に排虫が観
察され、それ以後は排虫がなかった。円虫におい
ては投薬2日目において糞便100g中に82の排虫
が観察され、それ以降は0であった。

このようにPF1022物質は馬回虫と円虫類
に対して強い駆虫効果が認められた。

結果は第9表に示す通りであった。1ppm添加
群では2例でわずかに排虫が認められ、5ppm添
加群では投薬開始から2週間後には糞便中の虫
卵は全例0となったが残存虫体が認められた。10
ppm添加群では2例において排虫率100%であった。

このようにPF1022物質は飼料添加によっ
ても鶏回虫に対して強い駆虫効果が認められた。

第9表 PF1022物質飼料添加による鶏回虫に対する駆虫効果

飼料中濃度 (ppm)	虫卵数 開始前	虫卵数 2週間後	排虫数	残虫数	排虫率(%)
10	300<	0	44	0	100
10	300<	0	55	0	100
10	176	2	45	55	46.4
5	300<	0	68	11	88.1
5	300<	0	29	23	56.9
5	158	0	60	36	62.5
1	300<	131	6	49	10.9
1	300<	79	4	96	4.0
1	172	272	0	83	0

実施例11

牛の第4胃から採取した捻転胃虫 (*Haemonchus contortus*) を試験管内で遊泳させ、そこへPF1022物質を添加して駆虫活性を観察した1例を示す。

調整した培養液を4本の試験管に分注して39~40℃に加熱しておき、牛の第4胃から採取した捻転胃虫をそれぞれ3から5隻入れて遊泳させた。そこへPF1022物質の所定量を少量のジメチルスルホキシドに溶解したものを滴下混和し、捻転胃虫の動きを観察した。PF1022物質は培養液中の最終濃度でそれぞれ2ppm、8ppm、40ppmとなるように調整した。なお、1本はジメチルスルホキシドのみ滴下し対照とした。

結果はPF1022物質40ppmでは10分、8ppmでも15分、2ppmでは25分で運動が停止した。ジメチルスルホキシドのみ滴下した対照では運動は弱くはなるが1時間経過しても運動性が認められた。

このことからPF1022物質は捻転胃虫に対

して強い麻痺作用があることが認められた。

4. 図面の簡単な説明

第1図：PF1022物質のメタノール中(100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)での紫外吸収スペクトルを示す。

第2図：PF1022物質の臭化カリウム錠での赤外部吸収スペクトルを示す。

第3図：PF1022物質の重クロロホルム溶液中での400M 水素核磁気共鳴スペクトルを示す。

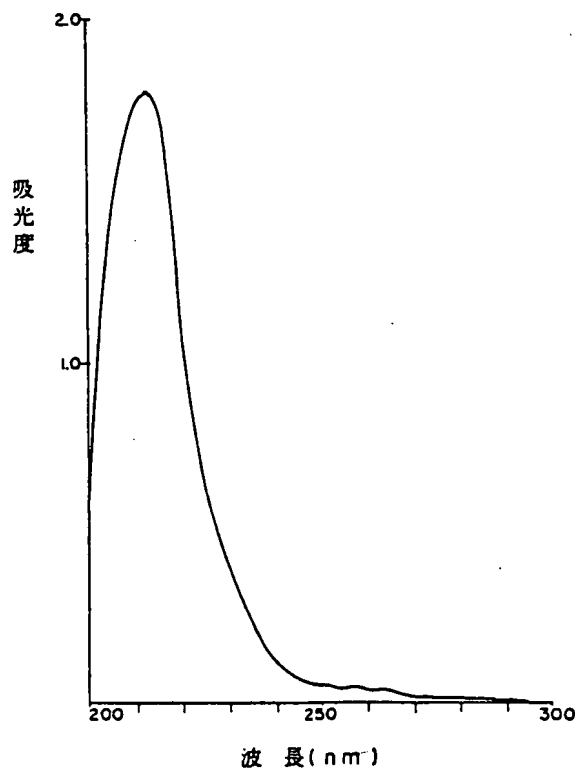
第4図：PF1022物質の重クロロホルム溶液中での100M 炭素核磁気共鳴スペクトルを示す。

特許出願人 明治製菓株式会社

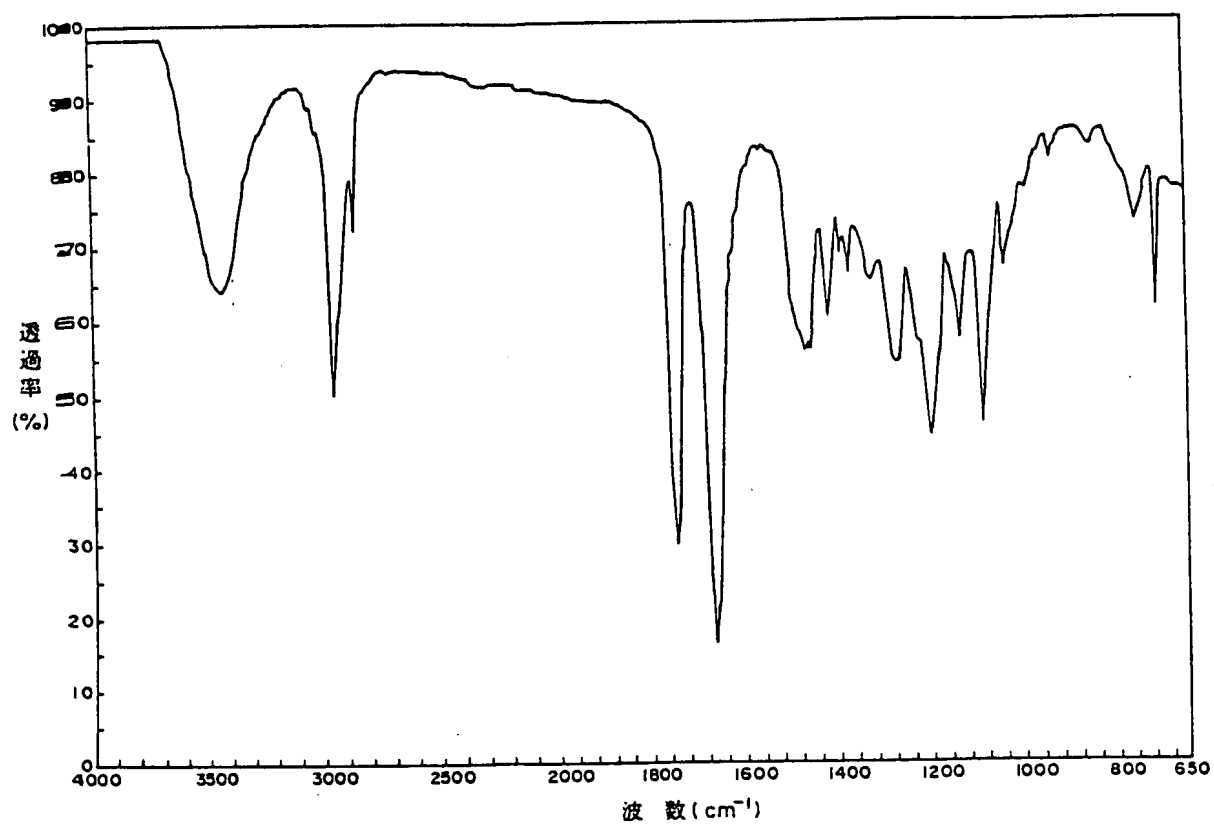
代理人 弁理士 湯本 宏



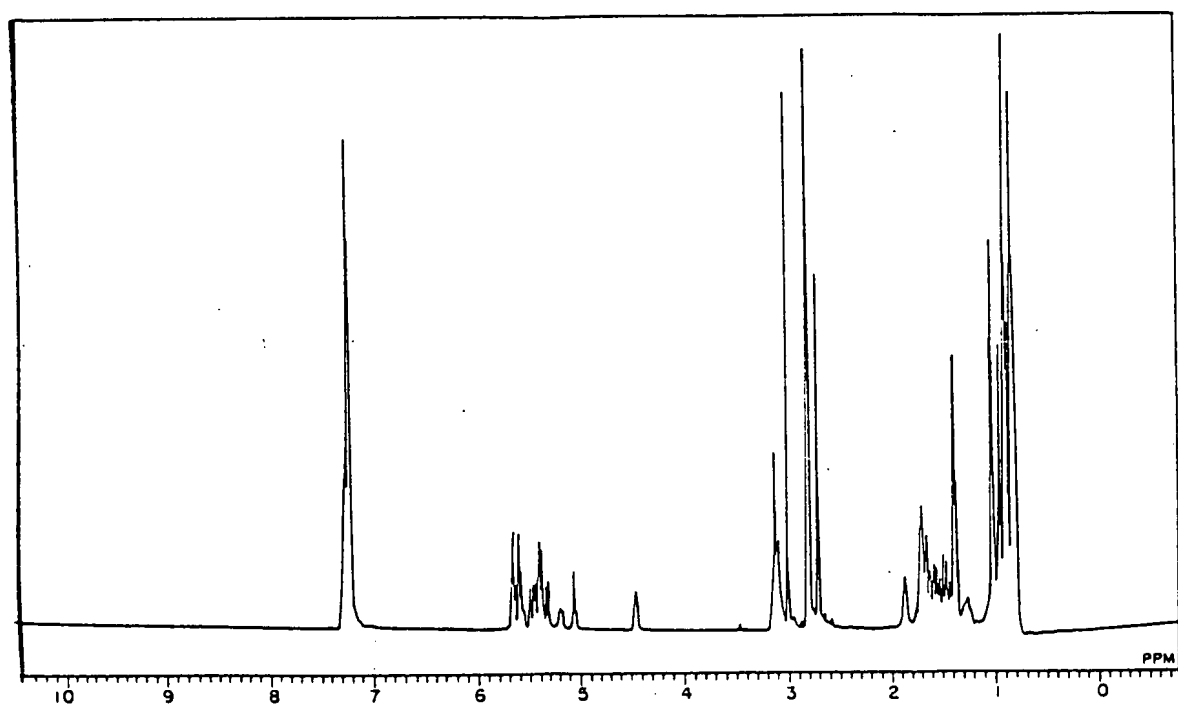
第1図



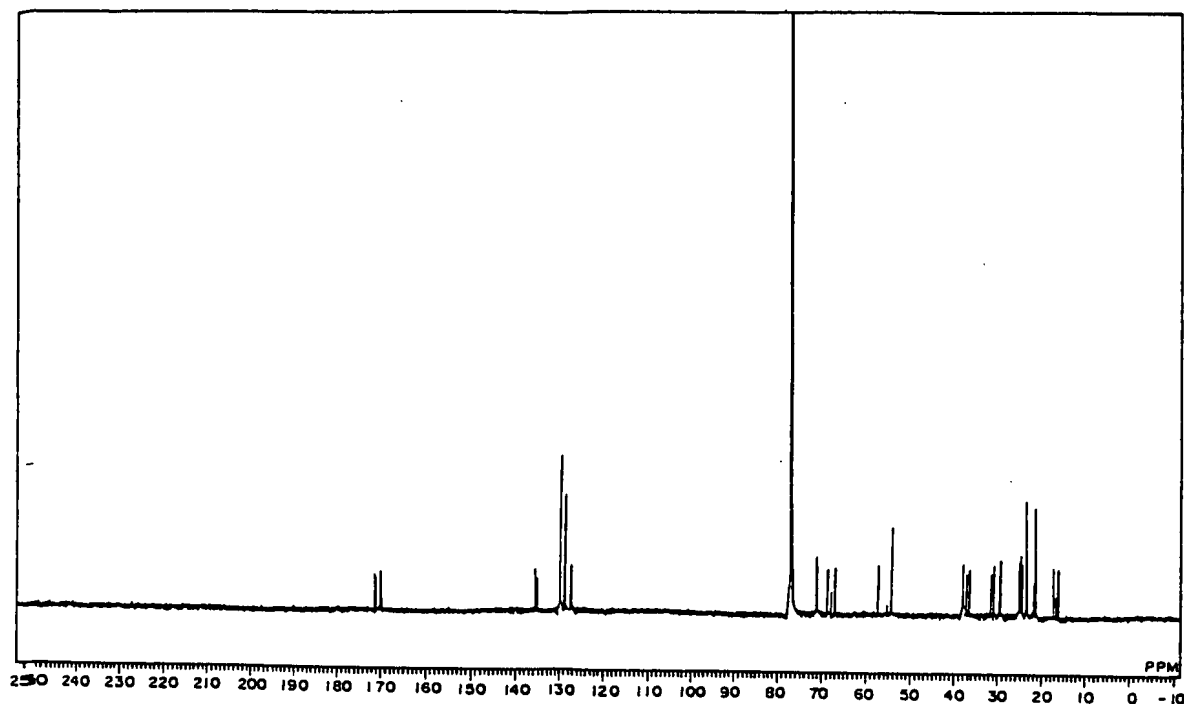
第 2 図



第 3 図



第 4 図



第 1 頁の続き

⑤Int. Cl.⁹

識別記号

庁内整理番号

C 07 G 11/00
 //(C 12 P 21/04
 C 12 R 1:645)

A

8318-4H

⑫発明者	赤井	直利	神奈川県横浜市港北区師岡町760	明治製菓株式会社薬品総合研究所内
⑫発明者	矢口	貴志	神奈川県横浜市港北区師岡町760	明治製菓株式会社薬品総合研究所内
⑫発明者	宮道	慎二	神奈川県横浜市港北区師岡町760	明治製菓株式会社薬品総合研究所内
⑫発明者	庄村	喬	神奈川県横浜市港北区師岡町760	明治製菓株式会社薬品総合研究所内
⑫発明者	佐々木	徹	神奈川県横浜市港北区師岡町760	明治製菓株式会社薬品総合研究所内
⑫発明者	瀬崎	正次	神奈川県横浜市港北区師岡町760	明治製菓株式会社薬品総合研究所内
⑫発明者	清水	功雄	神奈川県横浜市港北区師岡町760	明治製菓株式会社薬品総合研究所内
⑫発明者	新井田	昌志	神奈川県横浜市港北区師岡町760	明治製菓株式会社薬品総合研究所内

手続補正書 (自発)

特開平3-35796(12)

別紙

平成2年3月12日

特許庁長官 吉田文毅 殿

1. 事件の表示 平成2年特許願第25176号
2. 発明の名称 環状デブシペプチド物質およびその製造法、
ならびにそれを含有する駆虫剤
3. 補正をする者
事件との関係 特許出願人
住所 〒104 東京都中央区京橋2丁目4番16号
名称 明治製菓株式会社
代表者 佐井 章
4. 代理人
住所 〒104 東京都中央区京橋2丁目4番16号
明治製菓株式会社内(272)6511(大代表)
氏名 (7325) 井理士 湯本 宏
5. 補正命令の日付 なし
6. 補正により増加する発明の数 なし
7. 補正の対象 明細書の発明の詳細な説明の欄
8. 補正の内容 明細書第32頁第1行目の「認められた。」の
次に別紙の全文(実施例12)を挿入する。



実施例12

糞便検査で犬回虫 (*Toxocara canis*)、犬鉤虫 (*Ancylostoma caninum*)、犬鞭虫 (*Trichuris vulpis*) がそれぞれ感染していることが確認された犬に P F 1 0 2 2 物質を経口投与して駆虫効果を観察した実施例を示す。

犬回虫あるいは犬鉤虫に感染した犬それぞれ1頭に5mg/kgを1回投与し、排虫数と残存虫体数を数えた。犬回虫では排虫数6、残存虫体数0であり、犬鉤虫では排虫数12、残存虫体数0であり、排虫率はいずれも100%であった。

一方、犬鞭虫に感染した犬1頭に5mg/kg、もう1頭に10mg/kgを1回経口投与し、排虫数と残存虫体数を数えた。5mg/kgでは排虫数327、残存虫体数504で排虫率は39.4%、10mg/kgでは排虫数22、残存虫体数0で排虫率100%であった。

このように P F 1 0 2 2 物質は犬回虫、犬鉤虫、犬鞭虫に対して強い駆虫効果が認められた。